

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**SVOJSTVA I BIOKEMIJA BISUSA**  
**PROPERTIES AND BIOCHEMISTRY OF BYSSUS**  
**SEMINARSKI RAD**

Ariana Ivanić

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: izv.prof. dr. sc. Renata Matonićkin Kepčija

Zagreb, 2019.

# SADRŽAJ

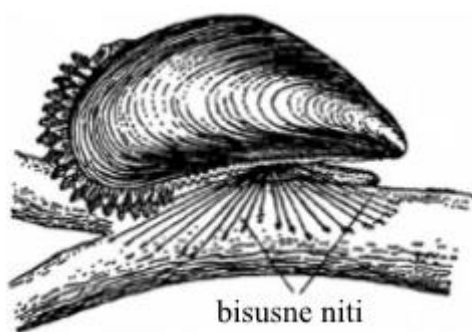
1. UVOD.....	2
2. STRUKTURA, SINTEZA I RAZNOLIKOST BISUSA.....	3
2.1. Struktura.....	3
2.2. Sintaza.....	4
2.3. Raznolikost.....	5
3. BIOKEMIJA BISUSA I PRIPADNIH PROTEINA.....	6
3.1. Kolagen.....	6
3.2. Proteini adhezivne ploče.....	8
4. BIOMEHANIČKA SVOJSTVA BISUSA.....	11
5. PRIMJENA BISUSA.....	12
5.1. Povijesna primjena.....	12
5.2. Primjena danas.....	14
6. LITERATURA.....	15
7. SAŽETAK.....	16
8. SUMMARY.....	16

# 1. UVOD

Bisus je proteinska, vlaknasta struktura iznimne čvrstoće koja služi pričvršćenju određenih skupina školjaka za podlogu. Školjkaši (koljeno Mollusca, razred Bivalvia) žive na raznim i vrlo specifičnim staništima. Razlikujemo dvije ekološke skupine: jedna skupina predstavlja one školjake koji žive ukopani u sediment (infauna), a druga predstavlja one koji žive pričvršćeni na podlozi (epifauna). Potonji za čvrstu podlogu mogu biti pričvršćeni bisusnim nitima (*Mytilus*, *Modiolus*, *Arca*, *Pinna*, *Dreissena* i *Tridacna*) (Ehrlich 2010). Bisusne niti razvile su se kao prilagodba na morske obale izložene djelovanju vjetra i valova. Naime, bisusne niti su izrazito snažne i žilave, ali i rastezljive, što je vrlo važno kako bi se mogli izdržati naleti vjetra i snažna razbijanja valova. One posreduju u kontaktu mekanog, živog tkiva i krutog, inertnog materijala (Slika 1). Svaka individualna nit proksimalnim je krajem ukorijenjena u živo tkivo, a distalnim krajem je pričvršćena za stijenu. Izvanredna adhezivna svojstva im omogućuju da se prilipe za tvrdi ili mekani supstrat u vodenom okruženju gdje jako malo prirodnih i sintetičkih ljepila uopće može funkcionirati.

Zbog ovih iznimnih mehaničkih i adhezijskih svojstava, bisusne niti danas se proučavaju kao model za razvoj novih biomimetičkih polimera koji bi mogli imati primjenu u medicini, biotehnologiji, kulturi stanica, tkivnom inženjerstvu i dr. Istraživanja bisusa kao materijala su interdisciplinarna i obuhvaćaju područja biokemije, kemije polimera, znanosti o materijalima, biomimetike (korištenje prirodnih sustava i struktura kao uzora za tehničko modeliranje) i biomedicine. Uglavnom se provode na vrstama iz porodice Mytilidae (dagnje) (Torres, 2012).

U ovome radu proći će se kroz opći pregled svojstava, biokemiju i primjenu bisusnih niti. Prvi dio opisuje anatomiju i način proizvodnje bisusa. Zatim je opisana njihova morfologija i biokemija što je u neposrednoj vezi s iskoristivim mehaničkim i adhezijskim svojstvima koja su opisana u daljnjem poglavlju. Iskorištavanje bisusa kao materijala poznato je još od davnina, stoga je dan i kratak pregled povijesne primjene. Naposljetku je prezentirano nekoliko mogućih suvremenih primjena adhezivnih svojstava u raznim biotehnološkim i biomedicinskim područjima.

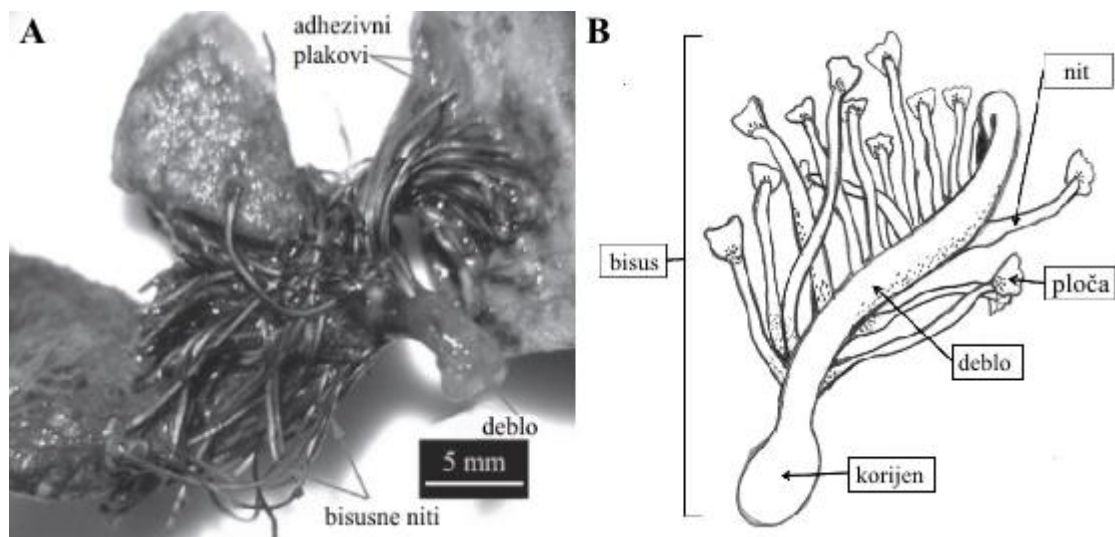


**Slika 1.** Shematski prikaz vrste iz por. Mytilidae vezane za površinu drveta bisusnim nitima. (Prilagođeno na temelju Ehrlich 2010)

## 2. STRUKTURA, SINTEZA I BIORAZNOLIKOST BISUSA

### 2.1. Struktura

Bisus se može podijeliti na 4 glavne regije. To su korijen, deblo, bisusna nit i adhezivna ploča (Slika 2). Svi dijelovi osim korijena izloženi su moru, a korijen je ujedno i jedini dio bisusa koji sadrži stanice. Uronjen je u mišićno tkivo na bazi stopala, a iz njega se proteže deblo koje podržava bisusne niti. Na samom kraju svake od niti nalazi se adhezivna ploča koji je odgovoran za pričvršćenje za podlogu. Deblo bisusa ukorijenjeno je u anteriorne i posteriorne bisusne mišiće retraktore na bazi stopala. Kontrakcijom ovih mišića, životinja može prilagođavati svoj položaj, odnosno primicati se ili odmicati od supstrata i podešavati tenziju bisusnih niti (Waite 1992).



**Slika 2. A** Fotografija bisusnih niti vrste *Aulacomya atra* Molina pričvršćenih za razno kamenje. (Prilagođeno na temelju Torres i sur. 2012) **B** Ilustracija izdvojenog bisusa plave dagnje *Mytilus edulis* L. (Preuzeto i prilagođeno na temelju Collin 2011)

Bisusne niti većine vrsta, posebice pripadnika porodice Mytilidae, se s obzirom na razmještaj proteina može podijeliti na proksimalnu i distalnu regiju i adhezivnu ploču. Proksimalna regija ima valovitu površinu i čini 1/3 niti. Distalna regija je glađa, uža i otprilike je duplo duža od proksimalne regije. Na nju se nastavlja adhezivna ploča u kojemu se nalaze specifični proteini odgovorni za adheziju. Međutim, neke vrste iz porodice dagnji nemaju razlučene niti na proksimalnu i distalnu regiju, npr. *A. atra* Molina (Ehrlich 2010).

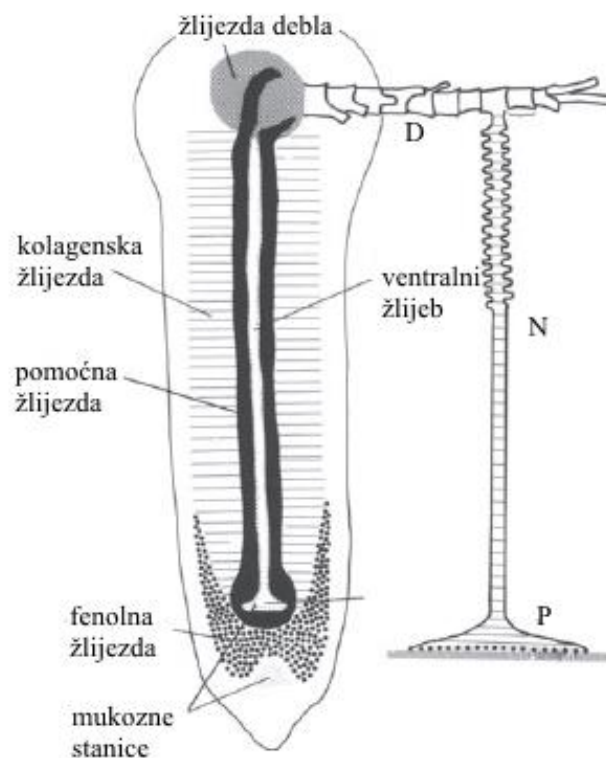
Bazirano na eksperimentalnim podacima korištenjem raznih mikroskopskih tehnika, ustanovljeno je da je svaka bisusna nit vrlo kompaktna struktura sačinjena od paralelnih, gusto pakiranih filamenata i da sadrži barem dvije različite komponente s različitom reaktivnošću na teške metale. Jedna komponenta je vlaknasta srž, a druga je zaštitna kutikula. Veći dio niti čini srž koja se

sastoji od 3 tipa kolagenskih vlakana. Kolagen čini više od 50% bisusa, no njegova aminokiselinska sekvenca specifična je za svaku vrstu. (Diana i sur. 2017). Srž je prekrivena tankim, zaštitnim slojem ili kutikulom. Debljina kutikule varira između 2 i 4  $\mu\text{m}$ . Funkcija kutikule je da zaštiti kolagenska vlakna od abrazije i mikroorganizama (Torres 2012).

## 2.2. Sinteza

Veliko, mišićavo stopalo školjkašima najviše služi za pokretanje, ali ima i značajnu ulogu u formiranju bisusa. Naime, u njemu se nalaze žlijezde odgovorne za formiranje bisusnih niti. Četiri su glavne holokrine žlijezde: mukozna, fenolna (ljubičasta), kolagenska (bijela) i pomoćna (enzimatska) žlijezda (Slika 3). Mukozna žlijezda luči kisele glikozaminoglikane i glikoproteine, fenolna sadrži proteine bogate *o*-difenolima, kolagenska luči kolegen i elastične proteine, a dodatna žlijezda ima katehol oksidaznu aktivnost i sadrži prekursore *o*-difenola. Žlijezda debbla luči lamilarne proteine debbla (Waite 1992).

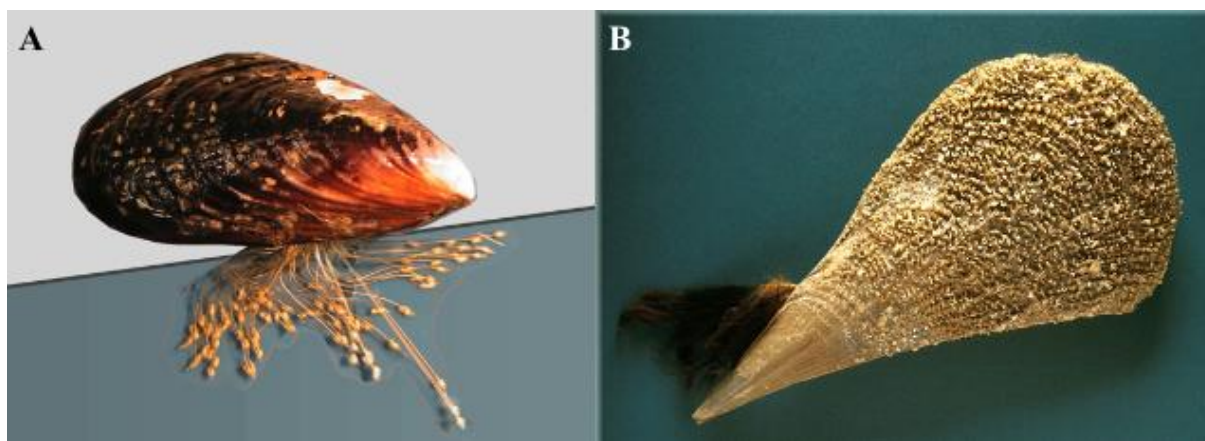
Proces lučenja bisusnih niti započinje kada se školjkaš stopalom priljubi uz adekvatnu podlogu. Prvo se sintetizira adhezivna ploča, zatim nit koja proksimalno raste od debbla prema ploči. Holokrine žlijezde luče topive prekursore proteina u ventralni žlijeb na stopalu. Oblikuju se mišićnim kontrakcijama stopala, a cjelokupan proces traje oko 5 minuta (Torres i sur. 2012).



**Slika 3.** Shematski prikaz žlijezdi bisusa u stopalu (ventralna strana) roda *Mytilus* s deblom (D), nitima (N) i pločom (P). (Prilagođeno na temelju Waite 1992)

## 2.3. Raznolikost

Bisus je varijabilnog sastava i funkcije među raznim vrstama, a njegova raznolikost uvjetovana je okolišnim faktorima. Na primjer, uočeno je da vrste roda *Mytilus* imaju manji broj debljih niti, dok polu-infaunalne vrste, npr. rod *Pinna*, imaju veći broj tanjih niti (Slika 4). To im omogućuje da se pričvrste za više manjih čestica i tako se stabiliziraju u sedimentu, dok je epifaunalnim vrstama bitnije da imaju pouzdanu potporu protiv naleta vjetra i valova (Ehrlich 2010). Također, ustanovljeno je da se broj bisusnih niti povećava linearno s povećanjem turbulencije vode (Torres 2012). Što se tiče kemijskog sastava, interesantno je da su niti porodice Mytilidae sačinjene uglavnom od kolagena, dok niti porodica Pinnidae, Anomiidae (sedlasti školjkaši) i Dreissenidae ne sadržavaju kolagen (Ehrlich 2010). *Pinna nobilis* L. (plemenita periska) čak nema adhezivnu ploču ni proksimalni dio niti, a bisus je neobično fin i gladak (Diana i sur. 2017). Bisus može biti i izrazito mineraliziran. Primjer je *Anomia* sp. iz porodice Anomiidae. Više od 90% bisusa sadrži  $\text{CaCO}_3$  koji je prisutan u oba polimorfna oblika – kao aragonit i kalcit (Ehrlich 2010).

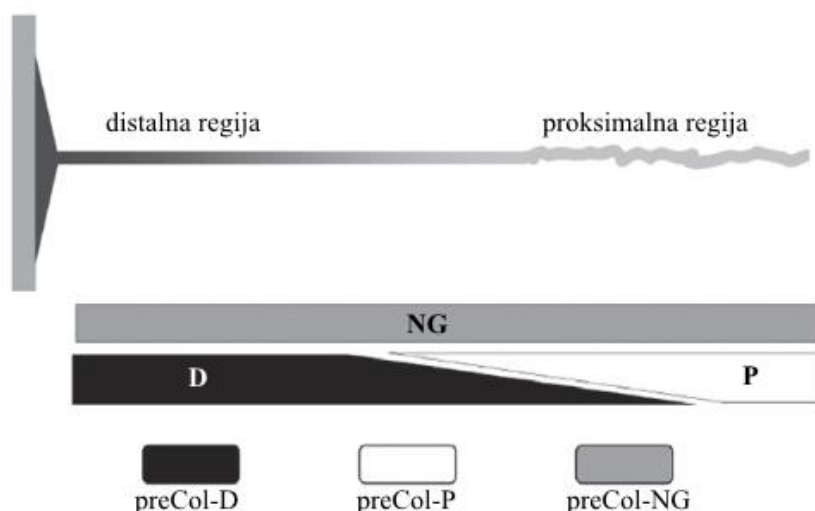


**Slika 4.** **A** Prikaz kalifornijske dagnje *Mytilus californianus* Conrad pričvršćene za čvrstu površinu bisusnim nitima. Relativno malobrojne niti su većeg promjera i završavaju adhezivnom pločom (Preuzeto s <https://www.icb.ucsb.edu/research/high-strain-and-high-stiffness-coatings-cellular-structures>). **B** Fotografija plemenite periske *P. nobilis* L. s tankim i mnogobrojnim bisusnim nitima. (Preuzeto s <https://thesmokers.wordpress.com/2011/12/14/il-bisso-di-taranto/>)

### 3. BIOKEMIJA BISUSA I PRIPADNIH PROTEINA

#### 3.1. Kolagen

Srž bisusnih niti sastoji se od prekursora (pretpepsiniziranog) kolagena (preCol) koji se slaže u jako dugačke mikrofibrilarne strukture uronjene u matriks (Rubin 2010). Postoje tri različita tipa kolagena s obzirom na razmještaj u bisusnoj niti. PreCol-D se nalazi u krućoj, distalnoj regiji, preCol-P u elastičnoj proksimalnoj, a pre-Col-NG (eng. non-gradient) se nalazi duž cijele niti (Slika 4). PreCol je kopolimer i ima 3 glavne domene: središnju domenu kolagena, dvije bočne domene, koje su jedini varijabilni dio ovih vlakana, i N- i C-terminalne His bogate domene. Aminokiselinski slijed bisusnog kolagena homologan je s kolagenom sisavaca. Sastoji se od ponavljajućih tripleta Gly-X-Y gdje je X uglavnom prolin, a Y je često hidroksiprolin ili hidroksilizin (Diana i sur. 2017). Terminalne His domene služe kao reverzibilni ligandi za koordinaciju iona prijelaznih metala, npr.  $Zn^{2+}$  ili  $Cu^{2+}$  (Torres 2012).

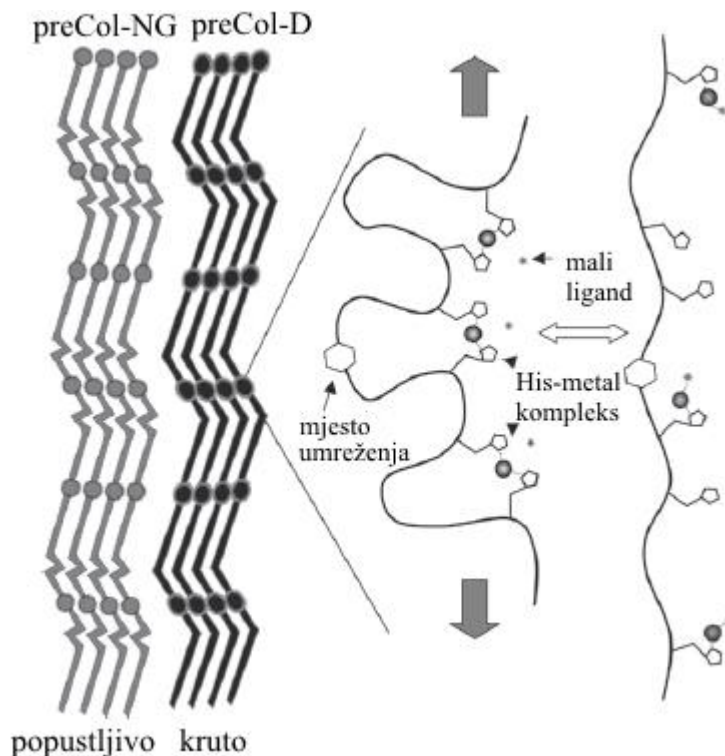


**Slika 4.** Distribucija kolagena preCol-D, preCol-P i preCol-NG duž bisusne niti.

(Prilagođeno na temelju Rubin 2010)

Ovaj biokemijski gradijent kolagena u srži direktno je povezan s mehaničkim svojstvima. Kolagenska vlakna odgovorna su za elasticitet bisusnih niti. Naime, preCol-D i preCol-NG vlakna su na distalnom kraju niti međusobno paralelna (Slika 5). PreCol-NG je popustljivije kolagensko vlakno od PreCol-D budući da u svojim bočnim domenama sadrži puno glicina, dok je preCol-D vlakno puno kruće. Kada dođe do opterećenja, preCol-D vlakna snose većinu tereta sve dok ne puknu His-metal koordinativne veze, a bočne domene preCol-NG vlakna se ispruže. Kako se imidazolne skupine histidina odmiču od metalnog iona, tako na njihovo mjesto u koordinativnoj vezi dolazi neki drugi manji ligand, npr. voda ili klorid. Kompleksi histidina i metala jako dobro

raspršuju energiju, toliko dobro da su centralne domene kolagena zaštićene od deformacije tijekom istezanja. Pod uvjetom da umreženje proteina ostane čitavo, His-metal koordinativne veze opet će se pronaći i oformiti tijekom oporavka niti (Rubin 2010).



**Slika 5.** Shematski prikaz međudjelovanja preCol-NG i preCol-D filamenata tijekom istezanja bisusne niti. (Prilagođeno na temelju Rubin 2010)

PreCol filamenti nisu samo povezani kompleksima histidina i metala, nego su i međusobno povezani kovalentnim vezama. N- i C- terminalne domene obiluju histidinom, ali su ujedno i jedina domena preCol filamenata koja sadrži DOPA aminokiselinske ostatke. Oksidacijom DOPA ostatka nastaje Dopakinon koji se kovalentno povezuje s histidinom. Na ovaj način preCol filamenti u srži čine svojevrsnu mrežu (Rubin 2010).

Ovakva interesantna struktura zapravo je genijalna. Dvostruko povezivanje preCol filamenata, jedno pomoću koordinativne His-metal veze, a drugo pomoću DOPA-His kovalentne veze, odgovorno je za iznimnu tvrdoću čak i tijekom istezanja. Kada dođe do tenzije, obje veze se snažno odupiru deformaciji, no ukoliko se tenzija na niti nastavi, prvo puca reverzibilna His-metal koordinativna veza. Puknuće kovalentnih DOPA-His veza dogoditi će se puno kasnije tijekom istezanja, ali tada više neće moći doći do oporavka bisusne niti (Rubin 2010).



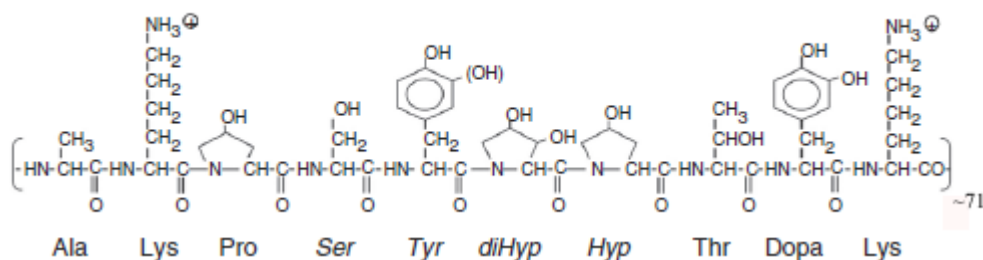
### 3.2. Proteini adhezivne ploče

U adhezivnoj je ploči prisutno 6 posebnih vrsta proteina poznatih kao proteini stopala (foot proteins, fp). Najviše istraživanja vezanih za ove proteine izvršena su na plavoj dagnji *M. edulis* L. Ta istraživanja potvrđuju da adhezivni proteini imaju sličnu aminokiselinsku sekvencu i da sadrže visoki udio 3,4-dihidroksifenil-L-alanina (DOPA). Ova aminokiselina nastaje posttranslacijskom modifikacijom pomoću enzima polifenol oksidaze koja hidroksilira tirozinski ostatak. Izuzetno je važna jer se smatra da je upravo ona odgovorna za adhezivna svojstva proteina. Oni proteini koji se u adhezivnoj ploči nalaze bliže kontaktu s podlogom sadrže i više ove aminokiseline. K tome, DOPA omogućuje umrežavanje adhezivnih proteina i posreduje u adheziji za supstrat (Torres 2012). Molekularne mase pojedinih adhezivnih proteina, kao i molarni postotak aminokiseline DOPA, prikazani su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Vrijednosti mase u kDa i sadržaj aminokiseline DOPA bisusnog proteina stopala vrste *M. edulis* L. (Prilagođeno na temelju Torres 2012)

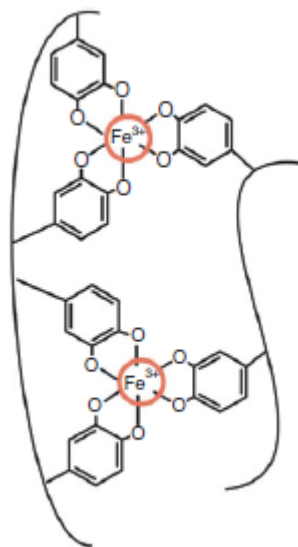
Proteini	Masa (kDa)	DOPA (mol%)
Mefp-1	~ 110	~ 10–15
Mefp-2	~ 42–47	~ 2–3
Mefp-3	~ 5–7	~ 20–25
Mefp-4	~ 79–80	~ 4–5
Mefp-5	~ 9	~ 27–30
Mefp-6	~ 12	~ 4

Prvi identificirani adhezivni protein bio je *M. edulis* foot protein-1 (*Mefp*-1). Nalazi se u tankoj, zaštitnoj kutikuli koja prekriva distalnu regiju niti i cijelu adhezivnu ploču (Torres 2012). Ima najveću molekulsku masu među adhezivnim proteinima (Tablica 1) budući da se sastoji od oko 71 ponavljanja dekaeptida Ala<sup>1</sup>-Lys<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-Ser<sup>4</sup>-Tyr<sup>5</sup>-diHyp<sup>6</sup>-Hyp<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>-DOPA<sup>9</sup>-Lys<sup>10</sup> (Slika 6) i od 12 ponavljanja heksapeptida Ala<sup>1</sup>-Lys<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-Thr<sup>4</sup>-DOPA<sup>5</sup>-Lys<sup>6</sup> (Ehrlich 2010). Vrše se 3 posttranslacijske modifikacije dekaeptida. Prolini na 6. i 7. položaju modificiraju se u (di)hidroksiprolin. Tyr na 9. položaju uvijek se modificira u DOPA aminokiselinu, dok se Tyr na 5. mjestu modificira u oko 50% slučajeva (Rubin 2010).



**Slika 6.** Prikaz aminokiselinskog slijeda decapeptida bisusnog adhezivnog proteina Mefp-1 nakon kratkog, neponavljajućeg N-terminalnog slijeda. Mefp-1 sadrži oko 71 ponavljanje ovog decapeptida. (Prilagođeno na temelju Rubin 2010).

Funkcija Mefp-1 u kutikuli je da daje čvrstoću i štiti od napada mikroorganizama. Dodatak  $\text{Fe}^{3+}$  iona u otopinu Mefp-1 proteina rezultira nastankom izuzetno stabilnih kompleksa (Slika 7). Kateholne grupe DOPA aminokiseline koordinativno vežu  $\text{Fe}^{3+}$  ion tvoreći tako svojevrsni oklop oko bisusne niti (Ehrlich 2010).



**Slika 7.** Prikaz umreženih Mefp-1 proteina preko koordinativne veze kateholatnih grupa DOPA aminokiseline i  $\text{Fe}^{3+}$  iona. (Preuzeto iz Rubin 2010)

*M. edulis foot protein-2* (Mefp-2) je u usporedbi s Mefp-1 manje mol. mase i ima manji DOPA udio. Za razliku od Mefp-1, ne nalazi se u kutikuli, već isključivo u samoj adhezivnoj ploči gdje čini do 25% ukupnih proteina. Sadrži tandemska ponavljanja cisteina pomoću kojih se središnji dio domene povezuje disulfidnim mostovima čineći tako kompaktnu konformaciju. Zbog ovakve konformacije ovaj protein djelomično je otporan na razgradnju proteolitičkim enzimima i ima ulogu u stabilizaciji matriksa ploče zbog visokog udjela cisteina koji se povezuju disulfidnim mostovima (90% cisteinskih ostataka ploče nalazi se u ovom proteinu) (Ehrlich 2010).

*M. edulis foot protein-3* (Mefp-3) glavni je konstituent adhezivne ploče. Sadrži vrlo visoku

razinu DOPA aminokiseline, a ujedno je i najmanji adhezivni protein (Tablica 1). Bogat je argininskim ostacima, a većina tih ostataka modificirana je u 4-hidroksi-L-arginin. Kao i DOPA, arginin i njegovi derivati vjerojatno sudjeluju u molekulskim interakcijama neophodnima za adheziju, no konkretna uloga Mefp-3 u bisusnoj adheziji i dalje nije poznata (Ehrlich 2010).

*M. edulis foot protein-4* (Mefp-4) ima molekulsku masu od oko 80 kDa i DOPA udio od 4mol%. Nalazi se u većem dijelu adhezivne ploče, sadrži veliku količinu Arg, His i Gly i vjerojatno služi kao vezujuće sredstvo na spoju bisusne niti i adhezivne ploče (Torres 2012).

Zajedno s Mefp-3, *M. edulis foot protein-5* (Mefp-5) nalazi se na spoju ploče i supstrata, stoga se pretpostavlja da ima važnu ulogu u samoj adheziji. To je relativno mali protein (9,5 kDa) s puno serinskih ostataka koji se djelomično mogu modificirati u fosfoserin (Torres 2012). Građen je od 74 aminokiselinskih ostataka, a više od 1/3 njih posttranslacijski su modificirani hidroksilacijom ili fosforilacijom. Sadrži do sad otkrivenu najveću razinu DOPA aminokiseline (nalazi se na više od 1 od 4 aminokiseline) (Ehrlich 2010).

*M. edulis foot protein-6* (Mefp-6) mali je protein (12 kDa) koji sadrži relativno veliku količinu tirozina (oko 20 mol%) i malu količinu DOPA aminokiseline. Funkcija mu je za sada nepoznata, no smatra se da bi mogao pružati poveznicu između kutikularnih proteina i proteina adhezivne ploče (Torres 2012).

Osim proteina, u bisusu vrsta *M. edulis* i mediteranske dagnje *M. galloprovincialis*, pronađene su značajne količine masnih kiselina (8% w/w), kao i metali poput Fe, Al, Si i Ca. Metalni sastav bisusa izrazito je varijabilan i često je odraz kemije vodenog stupca i/ili sedimenta.

## 4. BIOMEHANIČKA SVOJSTVA BISUSA

Funkcija bisusnih niti epifaunalnih vrsta školjkaša je da ih drže učvršćenima za tvrdi supstrat u zoni plime i oseke, gdje moraju podnijeti brzinu vode od preko 10 m/s i akceleraciju od oko 400 m/s<sup>2</sup> (Torres 2012). Zbog toga te niti uslijed djelovanja sile moraju biti izuzetno čvrste, ali opet biti i dovoljno elastične i efektivno apsorbirati energiju kako ih valovi ne bi razbili o stijene. To im omogućuje upravo kemijska struktura srži o čemu je već bilo riječi u potpoglavlju 3.1.

Brzina vode (valovi, plima i oseka) uzrokuje vlačno naprezanje niti kojemu se bisus mora oduprijeti. Jedan od načina na koji se regulira sposobnost bisusa da se odupre vlačnoj sili, jednostavno je da se mijenja broj bisusnih niti. Svaka bisusna nit može podnijeti vlačnu silu od oko 0,25 N, stoga je za pretpostaviti da se uz veći broj niti može podnijeti veća vlačna sila (Ehrlich 2010).

Još jedan od razloga zašto je bisus tako čvrsta i teško lomljiva struktura proizlazi iz njegove morfološke strukture. Naime, unutar kutikule nalaze se sitne granule koje održavaju tvrdoću niti. Tijekom rastezanja formiraju se mikropukotine u matriksu kutikule, ali granule sprječavaju da se pukotine dalje šire. Takva kutikula jedan je od rijetkih primjera gdje postoji visoka razina i elasticiteta i tvrdoće, a da funkcioniraju bez uzajamne štete (Torres 2012).

Budući da je tkivo školjkaša mekano, a supstrat za koji se učvršćuju je izuzetno tvrd, uslijed procesa pričvršćivanja bisusnim nitima može doći do deformacije tijela. Adhezivne ploče niti imaju vrlo zanimljivu mikrostrukturu koja omogućuje da se ta deformacija tijela izbjegne. U njima je prisutan gradijent pora čija se veličina postupno smanjuje od sučelja, tj. od kontakta ploče s podlogom, do početka niti. Tako je promjer pora blizu supstrata samo 200 nm, ali je gotovo 3 µm na mjestu spajanja distalnog dijela niti s adhezivnom pločom (Lee 2011). Također, adhezivni proteini unutar ploče nalaze se u obliku čvrste pjene (Torres 2012).

## 5. PRIMJENA BISUSA

### 5.1. Povijesna primjena

Korištenje bisusa kao materijala poznato je još od doba Antike. Na području Mediterana, bisusne niti plemenite periske, *P. nobilis* L., koristile su se za izradu "morske svile". Niti bi se oprale, osušile i počesljale i tako pripremljene niti zovu se "morska svila" koja se koristi za izradu izuzetno rijetke, fine i lagane tkanine koja se na Suncu sjaji poput zlata (Slika 10). Postoje brojni povijesni zapisi u raznim grčkim, egipćanskim i rimskim izvorima o korištenju bisusnih niti periske u ovu svrhu. U religijskim egipćanskim spisima opisuje se božanstvo koje se pojavljuje u obliku svećenika odjevenog u bisus. Herod, grčki povjesničar koji je osobno posjetio Egipat i piramide 500. g. pr. nove ere, govori o tunici nađenoj u sarkofagu u Tebi i kaže da je „napravljena od labave tkanine izuzetno finih niti, toliko tankih kao niti koje se koriste u proizvodnji čipke.“ Egiptolog Sir John Gardner Wilkinson pronašao je bisus u grobnicama faraona i prebrojao je niti kako bi utvrdio finoću tkanine. Na dužini od 25,4 mm izbrojao je 152 niti uzdužno i 71 nit poprečno. Za usporedbu, najbolji pamuk danas izrađen je od oko 88 niti (Ehrlich 2010).



**Slika 10.** Fotografija ljušture plemenite periske (*P. nobilis* L.), morska svila izrađena od njenih bisusnih niti i ispletene rukavice od morske svile. (Preuzeto s <https://ferrebeekeeper.wordpress.com/2012/06/12/sea-silk-byssus/>)

Tkanina izrađena od morske svile spominje se i u grčkoj mitologiji. Misli se da je "Zlatno runo", koje je tražio legendarni grčki heroj Jason, izrađeno od niti plemenite periske. Fina, prozračna tkanina često se koristila za izradu odjeće kraljica, princeza i bogataških žena. Neka mjesta u Italiji (Sardinija, Sicilija), Francuskoj (Korzika), Grčkoj i Turskoj koristila su tkaninu od bisusa za izradu čarapa i rukavica. Bisus je vrlo lagani i prozračan materijal. Ovakav tip tkanine bio je toliko fin i tanak da se par rukavica sačinjen od bisusa mogao toliko puta preklopiti da stane u ljusku od oraha. Morska svila se u ovu svrhu proizvodila sve do Srednjeg vijeka, a do ponovne proizvodnje tkanine od bisusa došlo je u 18. stoljeću na jugu Francuske i Italije (Ehrlich 2010).

Danas se način proizvodnje tzv. zlatne tkanine gotovo izgubio, a periske su danas puno rjeđe i

zaštićene. Ovakav tip tkanine danas se može vidjeti samo u nekim europskim muzejima gdje je još sačuvano nekoliko primjeraka. Jedina osoba danas koja koja zna istkati ovako finu tkaninu je Chiara Vigo sa Sardinije, a njena iznimno stara obiteljska tradicija očuvala se kroz 30 generacija. Potrebno je 100 ronjenja kako bi se prikupilo 300 grama sirovog materijala od čega se dobije 30 grama čistog materijala. U jednog godini prikupi se oko 600 grama. Tijekom prikupljanja materijala periske se ne uništavaju, već se uzme samo dio bisusnih niti tako da jedinka i dalje ostane pričvršćena. Čiste bisusne niti zatim se ispiru od soli i suše, a potom se pusti da odstoje u limunovom i jabučnom soku, što morskoj svili daje karakterističnu zlatnu boju (Slika 11). Za izradu jednog komada tkanine potrebno je sveukupno oko 5 godina

(<http://www.technofashionworld.com/byssus-weaving-of-sea-silk/>).

Važno je napomenuti da plemenita periska *P. nobilis* tijekom svog života proizvede 1-2 grama bisusnih niti te je potrebno prikupiti bisus od oko 1000 jedinki za proizvodnju 200-300 grama fine bisusne svile (Ehrlich 2010).



**Slika 11.** Komad tkanine istkan od morske svile. (Preuzeto s <https://interestingengineering.com/this-italian-artist-is-the-only-person-in-the-world-who-can-weave-sea-silk>)

## 5.2. Primjena bisusa danas

Bisus služi kao inspiracija za dizajn novih biomimetičkih polimera i kompozita (materijala građenog od međusobno čvrsto spojenih različitih materijala radi dobivanja novih fizikalnih i kemijskih svojstava koja nadmašuju svojstva pojedinačnih dijelova). Prednosti adhezije bisusom su te da je ona potpuna funkcionalna pod vodom ili u vlažnim uvjetima i da supstrati mogu biti razni, čvrsti materijali kao što su plastika, staklo, metal, a mogu čak biti i organski. Još jedna prednost je i ta da su bisusne niti biorazgradivi materijal. Iz ovih razloga adhezija bisusnim nitima ima široki raspon potencijalnih primjena u raznim biotehnološkim granama.

Jedna od mogućih primjena je da se koriste kao kirurški i dentalni adhezivi. Idealni kirurški adhezivi trebali bi prijanjati iz tkivni supstrat pružajući adekvatnu snagu u prisutnosti fizioloških tekućina. Također bi trebali biti biorazgradivi i ne bi trebali uzrokovati imunosni odgovor. Adhezivni proteini ekstrahirani iz por. *Mytilidae* imaju sve ove karakteristike te bi se ovaj ekstrakt mogao koristiti kao potencijalni biomaterijal u kirurškoj primjeni ukoliko se ubrza brzina stvrdnjavanja i ukoliko se ekstrakt pokaže biokompatibilnim. Budući dentalni adhezivi mogli bi sadržavati domene već poznatih podvodnih bioadheziva, kao što su adhezivni proteini por. *Mytilidae*. Budući da se zna da je DOPA jedna od odgovornih komponenti za adheziju, za proizvodnju hidrogelova za medicinsku primjenu mogu se koristiti hibridni sustavi koji sadrže Mefp-1 decapeptide i sintetske polimere (Torres 2012).

Biosenzori su analitički uređaji koji biološki odgovor pretvaraju u električni signal. Kako bi se izradili biosenzori, potrebni su adhezivi koji bi integrirali biološke komponente u sintetske uređaje. Proteini bisusa por. *Mytilidae*, kao što su Mefp proteini i kolageni, mogu se iskoristiti za imobilizaciju organske tvari na tvrdim supstratima, što se pak upotrebljava u dizajnu biosenzora (Torres 2012).

Adhezivni proteini porodice *Mytilidae* imaju svoju ulogu i u kulturi stanica i tkivnom inženjerstvu. Koriste se za premaz površina kako bi se stimulirala adhezija stanica. Komercijalno dostupan stanični adheziv baziran na Mefp-1 i Mefp-2 proteinima je Corning<sup>TM</sup> Cell-Tak. Koristi se za adheziju stanica i dijelova tkiva za različite vrste površina, uključujući plastiku, staklo metale i razne biološke materijale (Torres 2012).

## 6. LITERATURA

Collin Arens, Christine Paetzold S, Davidson Jeff. (2011): The effect of high-pressure spraying for tunicate control on byssal thread characteristics in the cultured blue mussel (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758). *Aquatic Invasions*. 6. 507-510. 10.3391/ai.2011.6.4.15.

Diana Andrea, Reguzzoni Marcella, Congiu Terenzio, Rescigno Antonio, Sollai Federica, Raspanti Mario (2017): The byssus threads of *Pinna nobilis*: A histochemical and ultrastructural study, *European Journal of Histochemistry*. 61. 280-286  
10.4081/ejh.2017.2779.

Ehrlich Hermann (2010): *Biological Materials of Marine Origin*, Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 299-314

Lee Bruce, Messersmith Phillip, Israelachvili Jacob, Waite Herbert J, (2011): Mussel-Inspired Adhesives and Coatings. *Annual review of materials research*. 41. 99-132. 10.1146/annurev-matsci-062910-100429.

Rubin Daniel, Miserez, Ali, Waite Herbert J, (2010). Diverse strategies of protein sclerotization in marine invertebrates: Structure - Property relationships in natural biomaterials. *Advances in Insect Physiology*. 38. 75-132.

Torres Fernando, Troncoso Heros, Omar Torres, C.E.. (2012). Mussel byssus fibres: A tough biopolymer. *RSC Green Chemistry*. 1. 305-329

Waite Herbert J, (1992): The Formation of Mussel Byssus: Anatomy of a Natural Manufacturing Process. In: Case S.T. (eds) *Structure, Cellular Synthesis and Assembly of Biopolymers. Results and Problems in Cell Differentiation (A Series of Topical Volumes in Developmental Biology)*, vol 19. Springer, Berlin, Heidelberg. 2. 27-54

<https://ferrebeekkeeper.wordpress.com/2012/06/12/sea-silk-byssus/> (10.7.2019.)

<http://www.technofashionworld.com/byssus-weaving-of-sea-silk/> (10.7.2019.)

<https://interestingengineering.com/this-italian-artist-is-the-only-person-in-the-world-who-can-weave-sea-silk> (10.7.2019.)

<https://www.icb.ucsb.edu/research/high-strain-and-high-stiffness-coatings-cellular-structures> (10.7.2019.)

<https://thesmokers.wordpress.com/2011/12/14/il-bisso-di-taranto/> (10.7.2019.)



## 7. SAŽETAK

Bisus je proteinska struktura koju luče određeni pripadnici razreda Bivalvia. Služi im za učvršćenje na tvrdim površinama ili za stabilizaciju u sedimentu. Može se podijeliti u 4 glavne cjeline: korijen, deblo, niti i adhezivna ploča. Vrlo je specifična struktura budući da im omogućuje snažnu adheziju u vlažnim uvjetima, a u isto vrijeme je i elastična i čvrsta. Zbog tih svojstava danas se sve više i više proučava struktura i biokemija bisusa radi primjene u raznim biomedicinskim i biotehnološkim područjima. U ovome radu dan je kratak pregled građe i sinteze bisusa i detaljniji opis proteina koji im daju te specifične karakteristike te je na kraju opisana njihova povijesna i suvremena primjena.

## 8. SUMMARY

Byssus is a protein structure that is secreted by certain mussels. Its function is to keep them firmly tied to the substratum or to keep them stabilized in the sediment. It can be divided into 4 distinct regions: the root, the stem, byssus threads and the adhesive plaque. It is a very specific structure with properties that provide mussels with adhesion in wet conditions and at the same time the byssus structure is both elastic and firm. Because of these properties, the structure and biochemistry of byssus is being more and more studied for its potential applications in biomedical and biotechnological fields. This paper is a short overview of its synthesis and structure with a more detailed description of the proteins that give byssus these properties along with the description of potential applications of byssus.